

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Patent Application of:
Sonia Amparo OSPINA SANCHEZ et al.

Application No.: 10/584,446

Confirmation No.: 4158

Filed: January 8, 2007

Art Unit: 1657

For: BIOPOLYMER BASED ON LACTOCOCCUS
LACTIS NRRL B-60656, PROCESS FOR
CULTURING LACTOCOCCUS LACTIS
NRRL B-30656, AND PROCESS FOR
PREPARING THE BIOPOLYMER

Examiner: L. J. Schuberg

LETTER

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Madam:

Subsequent to the filing of the above-identified application on January 8, 2007, attached hereto is a copy of the Spanish Language Amendments made in International Application No. PCT/IB2004/004224 during the PCT International Phase – Annex 4 that should be made of record in the present application.

If necessary, the Commissioner is hereby authorized in this, concurrent, and future replies, to charge payment or to credit any overpayment to Deposit Account No. 02-2448 for any additional fees required under 37 C.F.R. § 1.16 or under 37 C.F.R. § 1.17; particularly, extension of time fees.

Dated: FEB 13 2009

Respectfully submitted,

By 

MTC Marc S. Weiner

Registration No.: 32,181

BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP

8110 Gatehouse Road

Suite 100 East

P.O. Box 747

Falls Church, Virginia 22040-0747

(703) 205-8000

Attorney for Applicant

Attachment as noted above

04.10.2005

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

El propósito principal de esta invención es proveer un biopolímero, producido por un extracto o preparado enzimático con actividad glucosiltransferasa y fructosiltransferasa, producido a partir de una cepa de *Lactococcus lactis*, NRRL B-30656, caracterizada por su alta actividad de transferencia, lo cual permite obtener el biopolímero mediante un método de producción sencillo y fácil de escalar. Su producción consiste en los siguientes pasos: **Fase 1:** Fermentación con la cepa de *Lactococcus lactis*, NRRL B-30656 en un medio de cultivo desarrollado para el crecimiento de este microorganismo. **Fase 2:** La recuperación de la enzima extracelular mediante centrifugación o ultrafiltración. **Fase 3:** La producción del biopolímero mediante la reacción enzimática utilizando sacarosa como sustrato y el extracto o preparado enzimático. **Fase 4:** La purificación del biopolímero mediante precipitación con solventes o ultrafiltración y posterior secado del producto.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

El objeto de la invención es producir un biopolímero puro, libre de contaminantes polisacáridicos. El biopolímero se describe como un polímero producido por una cepa de *Lactococcus lactis* aislada del suelo. Esta cepa tiene alta actividad de transferencia, lo cual permite obtener el biopolímero mediante un proceso sencillo, y con una pureza mayor del 95%.

El microorganismo. En la presente invención la cepa de *Lactococcus lactis* NRRL B-30656, fue aislada del suelo mediante un proceso selectivo utilizando un medio que contenía sacarosa como fuente de carbono, en el cual, los microorganismos productores de un extracto o preparado enzimático con actividad glucosiltransferasa y fructosiltransferasa son capaces de utilizar el sustrato y producir polímeros otorgando aspecto mucoso a la colonia. De este medio, son seleccionados los microorganismos con estas características y purificados mediante técnicas de aislamiento por diluciones sucesivas y

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

04.10.2005

Componente	Concentración g/l
Sales	
K_2HPO_4	7-30
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01-1
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01-0.1
$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.001 – 0.1
$CaCl_2 \cdot 2 H_2O$	0.001 – 0.01
NaCl	0.01-0.1
Fuente de Carbono	
Sacarosa	10-40
Fuente de Nitrógeno	
Extracto de levadura	7-30

El pH es ajustado a pH 5-9 con HCl. El medio se esteriliza a 121°C por quince minutos.

Fermentación. Los pre-inóculos corresponden al 5-20% del volumen del inóculo, son activados a partir de la cepa pura conservada a -70°C en medio con glicerol al 20%; el tiempo de incubación no supera las 10-36 horas, periodo en el cual se debe verificar la pureza del pre-inóculo. Estos cultivos se realizan en frascos con agitación, ocupando un 5-20% del volumen total e incubándolos a 20-40°C con agitación de 100-400 rpm en agitadores orbitales. De acuerdo con el número y tamaño de los fermentadores, se determina el número de inóculos necesarios.

Las condiciones de crecimiento, y producción de la enzima son: temperatura: 20-40°C, agitación: 100 – 400 rpm (dependiente de la escala de fermentación),

Aireación. El microorganismo que promueve la fermentación es aerobio, por lo cual el cultivo debe ser aireado con 0.1 – 1 volúmenes de aire por volumen de medio por minuto (vvm) y el pH se mantiene entre 5 y 9 durante la fermentación. Como resultado de este proceso productivo se tienen medios de cultivo con

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

combinaciones de componentes para alcanzar una concentración final entre 10-30 g/l de biomasa, peso húmedo, con una actividad de transferencia de 2-6 U/ml, la cual se logra en un tiempo de 6-24 horas.

Recuperación de la enzima. La enzima extracelular se recupera del medio de cultivo fermentado por centrifugación a 3.000 -10.000 rpm por 15 minutos o filtración para separar la biomasa. De este modo el extracto o preparado enzimático presenta una actividad de glucosiltransferasa y fructosiltransferasa de 2-6 U/ml.

Producción del biopolímero

Reacción enzimática. Las condiciones de la reacción son las siguientes:

Medio de reacción:

Buffer fosfatos 50-300 Mm pH	: 5-9.
Sustrato	: sacarosa 5-40%.
Cantidad de enzima	: 10-40% v/v extracto o preparado enzimático.
Tiempo de reacción	: 12-48 horas
Agitación	: 100-400 rpm

Recuperación y purificación del biopolímero

Después de la reacción enzimática la temperatura se disminuye a 4°C y el biopolímero puede ser recuperado de dos formas:

a) Precipitación con solventes

A la mezcla de reacción fría se adiciona etanol al 96%, con agitación. La cantidad de etanol adicionada corresponde a 1.2- 2.0 volúmenes de etanol/volumen de mezcla de reacción.

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

04.10.2005

El biopolímero precipitado se redisuelve en la mitad del volumen de agua desionizada y destilada y se precipita nuevamente con 1.2 - 2.0 volúmenes de etanol/volumen de mezcla de reacción.

El biopolímero precipitado se redisuelve en un tercio del volumen de agua y se seca por liofilización o secado por aire forzado a 60°C, hasta una humedad del 5-6%.

b) Ultrafiltración

La mezcla de reacción se somete a un proceso de ultrafiltración en una membrana de celulosa regenerada con un tamaño de poro mayor de 10.000 Daltons, con el fin de eliminar la glucosa y fructosa residuales. Posteriormente el biopolímero se somete a un proceso de secado por aspersión.

El biopolímero se caracteriza por cromatografía líquida de alta eficiencia y por la viscosidad de una solución al 10% a 30°C. El biopolímero presenta un tiempo de retención de 7 - 7.5 minutos empleando una columna Shodex SC1011, a una temperatura de 70°C, un flujo de 0.6 ml/min, y agua grado HPLC como fase móvil.

La viscosidad de una solución al 10% a 30°C, empleando un viscosímetro ViscoEasy, Serie L, Schott, Ref. 28.541.120, vástago L2, 50 rpm, se encuentra en un rango de 1000-3000 centipoises (cP).

El tamaño promedio de partícula "dvs" (diámetro / volumen / superficie) es de 224 micras. El biopolímero tiene una densidad verdadera cercana a la de sacarosa (1.5 mg/ml). Es un material que presenta una alta porosidad interparticular del 48%.

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

EJEMPLO 2**PRODUCCIÓN DEL EXTRACTO O PREPARADO ENZIMÁTICO****1. Fermentación:****a) Activación del microorganismo**

Para la obtención del extracto o preparado enzimático con actividad glucosiltransferasa y fructosiltransferasa se empleó el microorganismo *Lactococcus lactis* NRRL B-30656. La bacteria fue almacenada en una solución crioprotectora (glicerol) a -70°C . La cepa fue descongelada lentamente a temperatura ambiente y activada en 50 ml de medio de sacarosa a una temperatura de 30°C por 12 horas, y 180 r.p.m. de agitación. Con 5 ml de este cultivo se realizaron dos tipos de siembras, la primera: en agar sacarosa, incubándose a 30°C por 24 horas, observándose las características mucoides, y almacenadas a 4°C ; la segunda: en 100 ml de caldo sacarosa, incubándose a 30°C por 12 horas; este último fue distribuido en tubos de centrifuga con una capacidad de 1 ml, con 20% V/V de glicerol y almacenados a -70°C utilizados para las posteriores fermentaciones. A los 45 ml del cultivo inicial restante, se conservaron en viales de 5 ml, mediante liofilización, utilizando leche descremada estéril como soporte, en una concentración de 10% y almacenados a 4°C .

b) Preparación de preinóculos e inóculos

Se preparan preinóculos con la misma composición del medio correspondiente al lote; se toma el microorganismo conservado en medio sacarosa sólido, se siembra en un volumen de medio líquido, al 5-20% del volumen del inóculo, se cultivan a $25-35^{\circ}\text{C}$, con agitación de 100-400 r.p.m durante 12-24 horas.

Composición del medio utilizado:

Componente	Concentración g/l
Sales:	

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

Condiciones de operación de los fermentadores

Condiciones	14 l
Volumen de Medio (l)	10
Relación Volumen de Medio / Volumen del Fermentador.	0.8
Porcentaje de Inóculo	5-10
Densidad óptica de Inoculación	0.5-1
Agitación (r.p.m)	100-400
Temperatura (°C)	25-35
Aireación (v.v.m)	1-3
pH Inicial del medio	5-8
Tiempo de Fermentación (Horas)	6-12

2. Recuperación de la enzima:**a) Centrifugación.**

La enzima extracelular se recupera por centrifugación a 5.000 rpm por 15 minutos para separar la biomasa. El extracto o preparado enzimático con actividad de glucosiltransferasa y fructosiltransferasa de 2 – 6 U/ml.

b) Ultrafiltración.

Otra manera de recuperar el sobrenadante de la fermentación es mediante el uso de membranas de ultra filtración con tamaños de poro 0.22-2 micras.

EJEMPLO 3**Producción y recuperación del Biopolímero.**

a) Reacción enzimática. Las condiciones de la reacción son las siguientes:

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

04.10.2005

Medio de reacción:

Buffer fosfatos 50-200 Mm pH	: 5 - 7
Sustrato	: sacarosa 8-20%.
Cantidad de enzima	: 10-30% v/v extracto o preparado enzimático (200- 500U/l).
Tiempo de reacción	: 20-40 horas
Agitación	: 100-400 rpm

La enzima es separada por centrifugación, se coloca en un medio que contiene de 8-20% de sacarosa, a pH 5-8 y temperatura de 25-35°C, por 20-30 horas obteniendo una concentración de polímero de 30-60 g/l, correspondiente a 40-60% de rendimiento respecto al sustrato. En otros procesos reportados se requieren 5-10 días para la producción del polímero. Los microorganismos reportados producen concentraciones menores de polímero, tabla 1.

b) Purificación del biopolímero.

Después de la reacción enzimática la temperatura se disminuye a 4°C y el biopolímero puede ser recuperado de dos formas:

- Precipitación con solventes. A la mezcla de reacción fría se adiciona etanol al 96%, con agitación. La cantidad de etanol adicionada corresponde a 1.2-2.0 volúmenes de etanol/volumen de mezcla de reacción.
- El biopolímero precipitado se redisuelve en la mitad del volumen de agua desionizada y destilada y se precipita nuevamente con 1.2 a 2.0 volúmenes de etanol/volumen de mezcla de reacción.
- El biopolímero precipitado se redisuelve en un tercio del volumen de agua y se seca por liofilización o secado por aire forzado a 60-80°C hasta una humedad del 5-10%.

TABLA 1

Producción de EPS por diferentes microorganismos.

Organismo	Biopolímero (g/100 ml)
-----------	------------------------

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

c) Secado

El producto final obtenido es un polvo blanco, que puede ser secado por liofilización o por calor seco a una temperatura no mayor a 80°C.

EJEMPLO 4

Caracterización del Biopolímero

1. Solubilidad.

El producto es un biopolímero hidrosoluble capaz de formar dispersiones homogéneas tipo hidrogel hasta una concentración máxima de 50%. 1.0 g de biopolímero se disuelve en 32 ml de ácido clorhídrico al 5%, en 50 ml de hidróxido de sodio al 10%, en 30 ml de ácido acético glacial.

Es Insoluble en: etanol, isopropanol, acetona, aceite mineral, aceite vegetal y polietilenglicol.

El producto es medianamente soluble en ácido oxálico al 0.5% a temperatura de ebullición.

2. Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

- En cromatografía de permeación una solución de biopolímero al 1.5% presenta un peso molecular de 900-1.100 kDa, determinado en una columna Shodex OHPak KB-803. Las condiciones de la cromatografía fueron las siguientes:

Temperatura : 55°C
Fase Móvil : Solución de NaCl 0.1 M
Flujo : 0.9 ml/min

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

- La pureza del polímero es mayor al 95%, evidenciada por un pico delgado en HPLC bajo las siguientes condiciones:

Columna marca Shodex SC1011

Fase móvil : agua destilada desionizada.

Flujo : 0.6 ml/min.

Temperatura : 70°C.

Equipo : Waters 510 con detector de índice de refracción marca Waters 2410.

Bajo estas condiciones el biopolímero presenta un tiempo de retención de 7 a 7.5 minutos.

Los patrones utilizados fueron glucosa, fructosa y sacarosa, grado reactivo analítico.

- El biopolímero es estable en un amplio rango de pH evidenciado por HPLC después de contacto del polímero con buffers de pH 2-9.

3. Viscosidad.

Se determinó la viscosidad de una solución al 10% a 30°C, empleando un viscosímetro ViscoEasy, Serie L, Schott, Ref. 28.541.120, vástago L2, 50 rpm. Las muestras analizadas presentaron una viscosidad en un rango de 1000-3000 centipoises (cP). Exhibe un comportamiento pseudo plástico (adelgazamiento al corte). La viscosidad de las soluciones del biopolímero disminuye al aumentar la velocidad de corte o cizalla, e incrementa al disminuir la temperatura.

4. Características dimensionales.

El biopolímero tiene una densidad verdadera cercana a la de sacarosa (1.5 mg/ml). Es un material que presenta una alta porosidad interparticular del 48%.

El tamaño promedio de partícula "dvs" (diámetro / volumen / superficie) es de 224 micras.

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

5. Adsorción de humedad

La capacidad de adsorción de agua oscila entre 6.12 mg/g y 353.20 mg/g dependiendo de la humedad relativa; esto lo hace un material ligeramente higroscópico. Gracias a su estructura polimérica e hidrofiliidad, el biopolímero tiene la capacidad de esponjarse ilimitadamente al contacto con agua, siendo capaz de formar sistemas de consistencia variable dependiendo de la cantidad de agua incorporada, hasta dar lugar a la formación de dispersiones acuosas características por su alta viscosidad

6. Humedad

Presenta pérdidas por secado en estufa de vacío a 60° C no mayores del 10%.

7. Características térmicas

El biopolímero presenta dos puntos de transición vítrea; el primero entre 20 y 30°C y el segundo entre 190 y 220°C, determinados mediante calorimetría diferencial de barrido.

8. Calidad microbiológica

El biopolímero presenta los siguientes recuentos microbiológicos:

Carga microbiológica	Rango	Unidad
Recuento de mesófilos viables.	2000 - 4000	ufc / gr
Recuento de coliformes.	Ausencia	nmp / gr
Recuento coliformes fecales.	<10	nmp / gr
Recuento de salmonella.	Ausencia	
Recuento de Mohos y levaduras.	2000 - 5000	ufc / gr

9. Usos.

- a) El biopolímero puede ser empleado en la Industria Farmacéutica como viscosante, espesante, estabilizante, dispersante, como formador de

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

REIVINDICACIONES

Nosotros reclamamos

1. Un biopolímero de glucosa y fructosa obtenido a partir de productos del metabolismo de una cepa de *Lactococcus lactis* depositada bajo el código NRRL B-30656, en donde los productos del metabolismo, consisten en un extracto o preparado enzimático con dos tipos de actividad glucosiltransferasa y fructosiltransferasa, y en donde el biopolímero que tiene una composición que mantiene una relación glucosa/fructosa entre 0.2 y 0.7, se caracteriza porque presenta las siguientes propiedades:

- peso molecular 900-1100 Kilodaltons,
- dos puntos de transición vítrea, el primero entre 20 y 30°C y el segundo entre 190 y 220°C,
- estabilidad en soluciones acuosas con valores de pH entre 2 y 9,
- viscosidad entre 1000 y 3000 centipoises cuando el polímero se encuentra en una concentración de 10 a 20% en una solución acuosa a temperatura de 30°C
- no higroscópico.
- altamente soluble en agua, capaz de formar dispersiones homogéneas tipo hidrogel hasta una concentración máxima de 50% peso/volumen.

2. Un método de producción del extracto o preparado enzimático con dos tipos de actividad glucosiltransferasa y fructosiltransferasa, producidas por la cepa de *Lactococcus lactis* NRRL B-30656, que consiste en:

- a) Activar el microorganismo *Lactococcus lactis* NRRL B-30656, empleando un medio que contiene sacarosa como fuente de carbono, proteínas como fuente de nitrógeno y sales minerales.

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

- b) Fermentar el microorganismo *Lactococcus lactis* NRRL B-30656 empleando un medio de cultivo que contiene sacarosa como fuente de carbono, proteínas como fuente de nitrógeno y sales minerales.
- c) Separar el extracto o preparado enzimático a partir del medio fermentado empleando centrifugación o ultrafiltración.

3. El método de producción del extracto o preparado enzimático de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la etapa de activar el microorganismo se lleva a cabo inoculando un medio que contiene sacarosa como fuente de carbono, proteínas como fuente de nitrógeno (extracto de levadura, sulfato de amonio, extracto de carne y otras fuentes de nitrógeno) y sales minerales, el cual se incuba por 10-36 horas a 25°C, a 100-400 rpm y pH 5 a 9.

4. El método de la reivindicación 2, en donde la etapa de fermentar el microorganismo se lleva a cabo cultivando el microorganismo *Lactococcus lactis* NRRL B-30656 empleando un medio de cultivo que contiene sacarosa como fuente de carbono, proteínas como fuente de nitrógeno (extracto o preparado enzimático de levadura, sulfato de amonio, extracto de carne y otras fuentes de nitrógeno) y sales minerales, K_2HPO_4 , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot H_2O$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, NaCl, el cual se incuba por 12-36 horas a 25°C, a 100-400 rpm, 0.1 – 1 vvm y pH 5 a 9.

5. El método de la reivindicación 2, en donde la etapa de separar el extracto o preparado enzimático se lleva a cabo separando el extracto o preparado enzimático a partir del medio fermentado centrifugando la suspensión del microorganismo a 3000 a 7000 rpm.

6. El método de producción del extracto o preparado enzimático, de acuerdo con la reivindicación 2, en donde en la etapa de fermentación con el microorganismo se puede llevar a cabo realizando un preinóculo con el microorganismo *Lactococcus lactis* NRRL B-30656 empleando un medio de cultivo que contiene sacarosa como fuente de carbono, proteínas como fuente de nitrógeno (extracto de levadura, sulfato de amonio, extracto de carne y otras

fuentes de nitrógeno) y sales minerales, K_2HPO_4 , $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot H_2O$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, $NaCl$, y el cual se incubó por 12-36 horas a $25^\circ C$, a 100-400 rpm, 0.1 – 1 vvm y pH 5 a 9.

7. El método de producción del extracto o preparado enzimático con actividad glucosiltransferasa y fructosiltransferasa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en donde la sacarosa como fuente de carbono se encuentra en concentraciones de 10 – 40 g/l, y las proteínas como fuente de nitrógeno se encuentran en concentraciones de 7 a 30 g/l y las sales minerales se encuentran en concentraciones de: K_2HPO_4 (7-30 g/l), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.01 – 1 g/l), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.01 – 0.1 g/l), $MnSO_4 \cdot H_2O$ (0.001 – 0.1 g/l), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0.001 – 0.01 g/l), y $NaCl$ (0.01 – 0.1 g/l), y el cual se incubó por 10 a 36 horas a $25^\circ C$, a 100 - 400 rpm y pH 5 a 9.

8. Un método de producción de un polímero de glucosa y fructosa de la reivindicación 1, que consiste en:

- a) Incubar el extracto o preparado enzimático con actividad glucosiltransferasa y fructosiltransferasa, obtenido por fermentación según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en un medio que contiene sacarosa como fuente de carbono, bajo condiciones adecuadas de agitación, temperatura, pH, concentración del extracto o preparado enzimático y sustrato y tiempo de reacción, para la producción del biopolímero.
- b) Recuperar y purificar el biopolímero por precipitación o ultrafiltración.

9. El método de producción del biopolímero, de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la etapa de incubar el extracto o preparado enzimático consiste en:

Incubar el extracto o preparado enzimático en un medio que contiene sacarosa como fuente de carbono, bajo condiciones adecuadas de agitación (100-400 rpm), temperatura, pH (5 a 9), concentración de extracto o preparado enzimático (10-40% v/v extracto o preparado enzimático) y sustrato (5-40%) y tiempo de reacción (12-48 horas), para la producción del biopolímero.

10. El método de acuerdo con la reivindicación 8 en donde la etapa de recuperar y purificar el biopolímero por precipitación consiste en:

- Adicionar a la mezcla de reacción fría 1.2 - 2.0 volúmenes de etanol al 96%, con agitación (la cantidad de etanol adicionada corresponde a vol. de etanol por vol. de mezcla de reacción).
- Disolver el biopolímero precipitado en la mitad del volumen de agua desionizada y destilada y se precipita nuevamente con 1.2 a 2.0 volúmenes de etanol/volumen de mezcla de reacción.
- Disolver el biopolímero precipitado en un tercio del volumen de agua y secar por liofilización o secado por aire forzado de 50 a 80°C hasta una humedad del 5-6%.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 8 en donde la etapa de recuperar y purificar el biopolímero por ultrafiltración consiste en: realizar un proceso de ultrafiltración con la mezcla de reacción empleando una membrana de celulosa regenerada con un tamaño de poro mayor de 10.000- 30.000 Daltons, con el fin de eliminar la glucosa y fructosa residuales, y someter el biopolímero a un proceso de secado por aspersión.

12. Un microorganismo de la cepa de *Lactococcus lactis*, aislado de suelos colombianos, depositado bajo el código NRRL B-30656.

13. El microorganismo descrito en la reivindicación 12, el cual produce el extracto o preparado de enzimas con dos tipos de actividad glucosiltransferasa y fructosiltransferasa.

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA

14. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 12 utilizado para producir el biopolímero mencionado en la reivindicación 1.

15. El microorganismo de acuerdo con la reivindicación 12, el cual se conserva en un medio de sacarosa con glicerol al 20% a -70°C y por liofilización empleando leche descremada al 10%.

16. El biopolímero de acuerdo con la reivindicación 1, el cual se utiliza en la Industria Farmacéutica como viscosante, espesante, estabilizante, dispersante, formador de películas, desintegrante, sustituto de plasma sanguíneo, agente de lubricación y agente prebiótico.

17. El biopolímero de acuerdo con la reivindicación 1, el cual se utiliza en la Industria de Alimentos como espesante, viscosante, estabilizador, dispersante, fibra y sustituto de grasas, aceites y carbohidratos basados en éteres y ésteres.

18. El biopolímero de acuerdo con la reivindicación 1, el cual se utiliza en productos obtenidos por extrusión, para formar películas aptas para producir empaques flexibles y biodegradables y en la obtención de productos desechables biodegradables, obtenidos por inyección o por moldeo y en la producción de agentes floculantes para el tratamiento de aguas.

HOJA DE SUSTITUCIÓN

HOJA MODIFICADA